

بررسی کاربوتیپی گونه‌های بخش *Heliobrychis* از جنس اسپرس (*Onobrychis*) موجود در ایران

Karyotypic Study on Species of Section *Heliobrychis* of *Onobrychis* in Iran

فرنگیس قنواتی^۱، مریم تاجدینی^۲، مهدی یوسفی^۳ و حسن امیرآبادی‌زاده^۴

- ۱- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
- ۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، نجف‌آباد
- ۳- استادیار، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، نجف‌آباد
- ۴- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱/۲۶

چکیده

قنواتی، ف.، تاجدینی، م.، یوسفی، م.، و امیرآبادی‌زاده، ح. ۱۳۸۹ بررسی کاربوتیپی گونه‌های بخش *Heliobrychis* از جنس اسپرس (*Onobrychis*) موجود در ایران. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۶: ۲۸۴-۲۶۹.

در این تحقیق نه گونه از بخش *Heliobrychis* جنس *Onobrychis* (اسپرس)، از مناطق طبیعی ایران جمع‌آوری و با استفاده از مریستم انتهایی ریشه، تعداد و ابعاد کروموزوم‌ها در مرحله میتوز اندازه‌گیری و فرمول کاربوتیپی هر گونه تعیین شد. تعداد کروموزوم پایه در گونه‌ها بین $X=7$ و $X=8$ و تیپ کروموزوم‌ها نیز از نوع متاستریک تا ساب متاستریک بود. بیشترین مقدار طول ژنوم متعلق به گونه *O. scrobiculata* (۲۴/۲۶ میکرون) و کمترین میانگین طول ژنوم به گونه *O. lunata* (۱۴/۷۶ میکرون) تعلق داشت. گونه *O. heliocarpa* با فرمول کاربوتیپی $16m$ بیشترین درصد شکل کلی (۴۴/۸۵۶) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۲۱۸) و گونه *O. oxyptera* با فرمول کاربوتیپی $2m+14sm$ کمترین درصد شکل کلی (۳۲/۵۵۲) و بیشترین شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۴۸۹) را داشتند. در میان گونه‌های مورد بررسی گونه‌های *O. lunata* و *O. heliocarpa* در کلاس A قرار گرفتند و دارای کاربوتیپ‌های متقارن‌تر بودند که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این دو گونه است. گونه *O. oxyptera* در کلاس B ۳ قرار گرفت و کاربوتیپ آن به سوی نامتقارنی و پیشرفته بودن تمایل داشت. در تجزیه به مولفه‌های اصلی، سه مولفه اول بیش از ۹۶ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه کردند. در تجزیه خوشه‌ای به روش Ward بر اساس صفات کاربوتیپی گونه‌های مورد مطالعه در دو گروه مجزا قرار گرفتند. نتایج حاصل از این تجزیه برای رده‌بندی گونه‌ها و انتخاب گونه‌های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین گونه‌ای قابل استفاده است.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، بخش *Heliobrychis*، گونه‌ها، تجزیه آماری چند متغیره، تعداد کروموزوم، کاربوتیپ.

مقدمه

علوفه‌ای بوده و در کنترل فرسایش و یا به عنوان گیاهان جلب‌کننده زنبور عسل مورد استفاده قرار می‌گیرند (Lock and Simpson, 1991؛ Mabberley, 1997؛ Yakovlev *et al.*, 1996). این گونه‌ها تنوع ژنتیکی بالایی داشته و به عنوان یک ذخیره ژنتیکی غنی و ارزشمند می‌توان از آن‌ها برای اصلاح گونه‌های زراعی استفاده کرد. انجام تلاقی بین انواع غیرزراعی با گونه زراعی اسپرس، روش مناسبی برای فائق آمدن بر نارسایی‌های اسپرس‌های زراعی و افزایش تحمل نتاج به تنش‌های محیطی، بیماری‌ها و افزایش عملکرد کمی و کیفی آن‌ها محسوب می‌شود.

ذخیره ژنی این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تتراپلوئید با عدد پایه کروموزومی متفاوت ۷، ۸ و ۹ است. در مطالعات سیتولوژیکی که در مورد تعدادی از گونه‌های اسپرس انجام شد تعداد کروموزوم‌های گامتی گونه *O. viciaefolia*، ۱۴ و تعداد کروموزوم‌های سوماتیکی آن $2n=28$ گزارش شد (Chapman and Yuan, 1968). میرزایی ندوشن و فیاضی (Mirzaie-Nodoushan and Fayazi, 2000) ده جمعیت از گونه *O. sativa* را که از نقاط مختلف ایران جمع‌آوری شده بود مورد مطالعه سیتوژنتیکی قرار داده و ضمن ارزیابی این جمعیت‌ها از نظر سطح پلوئیدی و ارائه فرمول کاریوتیپی، تعدادی از پارامترهای آماری راجهت ارزیابی تقارن کاریوتیپی جمعیت‌های

جنس اسپرس (*Onobrychis*) به خانواده Fabaceae و طایفه Hedysareae تعلق دارد. این جنس با دارا بودن بیش از ۱۳۰ گونه یک ساله و چندساله در نواحی معتدله شمالی کره زمین گسترش دارد و مرکز تنوع آن شرق مدیترانه و غرب آسیا است. بواسیه (Boissier, 1872) این جنس را به دو بخش *SisYROSEMA* و *EUONOBRYCHIS* گروه‌بندی و ۲۴ گونه را در این دو بخش قرار داد. رشینگر (Rehinger, 1984) ۷ گونه را در قالب دو زیرجنس و نه بخش معرفی کرد. زیرجنس *SisYROSEMA* شامل پنج بخش *Anthyllium*، *Afghanica*، *Heliobrychis*، *Hymenobrychis* و *Insignes* و زیرجنس *Onobrychis* دارای چهار بخش *Dendrobrychis*، *Laxiflora*، *Onobrychis* و *Lophobrychis* است. رنجبار و همکاران (Ranjbar *et al.*, 2004, 2006, 2007) و امیرآبادی‌زاده و همکاران (Amirabadizadeh *et al.*, 2006, 2009) نیز چند گونه از جنس *Onobrychis* را به عنوان گونه‌های جدید از ایران معرفی کردند. در ایران جنس *Onobrychis* دارای ۶۳ گونه (۱۳ گونه یک ساله و ۵۰ گونه چند ساله) است که ۲۳ گونه آن به بخش *Heliobrychis* تعلق دارد و ۱۷ گونه آن فقط از ایران گزارش شده‌اند. تعدادی از گونه‌های این بخش دارای ارزش

بنابراین نمی‌توان آن‌ها را به عنوان دو زیر گونه از یک گونه تلقی کرد. تنوع ژنتیکی شش جمعیت *O. altissima* بر اساس صفات مورفولوژیکی و سیتولوژیکی و رفتار کروموزوم‌ها در میوز توسط کرمان و همکاران (Karamian et al., 2008) بررسی شد. نتایج نشان داد که جمعیت‌های مورد مطالعه همگی دارای ۲۸ کروموزوم بوده اما رفتار کروموزوم‌ها با یکدیگر متفاوت است. حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب (Hesamzadeh Hejazi and Ziaie Nasab, 2009) ضمن بررسی ۲۱ جمعیت از ۱۴ گونه اسپرس بانک ژن منابع طبیعی ایران دریافتند که گونه *O. crista-galli* با فرمول کاربوتیپی $2m+6sm$ و گونه *O. aucheri* با فرمول کاربوتیپی $8m$ به ترتیب نامتقارن‌ترین و متقارن‌ترین کاربوتیپ (از نظر تقارن درون کروموزومی) هستند. در بررسی آن‌ها، گونه *O. hohenackeriana* با داشتن بیشترین تغییرات بین کروموزومی نامتقارن‌ترین کاربوتیپ را داشت. در پژوهش حاضر با شمارش و اندازه‌گیری کروموزوم‌های مرحله متافازی میتوز گونه‌های بخش *Heliobrychis* که بسیاری از آن‌ها انحصاری ایران هستند، ضمن تعیین کاربوتیپ تاگزون‌ها به منظور تعیین عدد کروموزومی، مطالعه شکل و اندازه کروموزوم‌ها، گونه‌های نزدیک به یکدیگر نیز برای انجام تلاقی بین گونه‌ای با استفاده از روش‌های تجزیه آماری

مورد مطالعه ارائه کردند. انصاری و همکاران (Ansari Asl et al., 2000) تعدادی از گونه‌های موجود در استان فارس را بررسی کردند، نتایج نشان داد که گونه‌های *O. melanotricha*، *Onobrychis gaubae*، *O. aucheri ssp. tehranica*، *O. sojakii* با $2n=16$ کروموزوم و گونه *O. ptolemaica* با $2n=14$ کروموزوم دیپلوئید و گونه‌های *O. crista-galli* و *O. aucheri ssp. sammophila* با $2n=32$ کروموزوم و گونه *O. viciaefolia* با $2n=28$ کروموزوم تتراپلوئید هستند. همچنین این مطالعه نشان داد که در جنس اسپرس دو عدد پایه ۷ و ۸ وجود دارد. با بررسی کاربوتیپ چهار گونه اسپرس نشان داده شد که گونه‌های *O. aucheri ssp. Tehranica*، *O. scrobiculata*، *O. melanotricha* و *O. oxyptera* دارای ۱۶ کروموزوم هستند و بر اساس عدد پایه کروموزومی $X = 8$ گونه‌های دیپلوئید محسوب می‌شوند (Ansari Asl et al., 2001). حاتمی و نصیرزاده (Hatami and Nasirzadeh, 2006) در پژوهش‌هایی در مورد دو زیر گونه *O. aucheri subsp. tehranica* و *O. aucheri subsp. psammophila* گزارش کردند که با توجه به خصوصیات ریخت‌شناسی و صفات کروموزومی در هر دو تاکسون مشخص می‌شود که این دو زیر گونه با یکدیگر دارای اختلاف ظاهری و کروموزومی بوده

چند متغیره، تعیین شد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی نه گونه اسپرس مربوط به بخش *Heliobrychis* از نظر مشخصات کروموزومی مورد مطالعه قرار گرفتند. ابتدا برای از بین بردن سختی پوسته بذر، سطح ۱۰۰ عدد از بذر هر جمعیت توسط کاغذ سمباده خراش داده شد و سپس با آب ژاول ۱۰٪ ضد عفونی شدند. بذرهای تیمار شده را در تشک‌های پتری محتوی کاغذ صافی مرطوب قرار داده و برای جوانه‌زنی به ژرمیناتور ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. پس از ۴۸ ساعت که ریشه‌چه‌ها به اندازه ۱-۱/۵ سانتی‌متر رشد کردند، ریشه‌چه‌ها جدا و پس از انتقال به محلول پیش تیمار ۸- هیدروکسی کینولین، به مدت ۳/۵ ساعت در یخچال نگهداری شدند. نمونه‌ها در ادامه پس از شستشو با آب مقطر در محلول فیکساتور لویتسکی (محلول یک به یک فرمالین ده درصد و اکسید کرم یک درصد) قرار داده و در یخچال نگهداری شدند. پس از گذشت ۳۰-۲۴ ساعت به مدت ۳ ساعت در آب جاری شستشو و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. بعد از این مدت ریشه‌چه‌ها در محلول سدیم هیدروکسید نرمال به مدت ۱۲ دقیقه در حمام آبی ۶۰ درجه سلسیوس هیدرولیز و سپس با هماتوکسیلین رنگ آمیزی شدند. برای از بین بردن تیغه میانی و تهیه گسترش بهتر سلولی، ریشه‌چه‌ها به مدت یک ساعت در آنزیم سلولاز و پکتیناز قرار داده شدند و پس از اسکواش،

۱۰-۵ پهنه متافازی میتوز سلول‌های مریستم نوک ریشه برای هر گونه مورد مطالعه قرار گرفت.

در تمام نمونه‌های مورد مطالعه ابتدا تعداد کروموزوم در هسته سلول، شمارش شد و پارامترهای کاریوتیپی نظیر طول کل کروموزوم (Total Length: TL)، مجموع طول بازوی بلند (Long Arm Length: LA)، مجموع طول بازوی کوتاه (Short Arm Length: SA)، نسبت بازوی بلند به کوتاه (Ratio of LA/SA: r-value)، ضریب سانترومری (Centromic Index: CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است، توسط نرم‌افزار Micromesure بر حسب میکرون اندازه‌گیری شد. دیگر پارامترهای کاریوتیپی مانند درصد شکل کلی (Total Form Percentage: TF%)، اختلاف درصد طول نسبی بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین کروموزوم (Differences of Relative Length: DRL%)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (Relative Length of Shortest Chromosome: S%)، ضریب نامتقارن بودن درون کروموزومی (Intra Asymmetry Chromosomal Index: A1) و بین کروموزومی (Inter Asymmetry Chromosomal Index: A2) نیز محاسبه شدند. در این بررسی برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاریوتیپی

دپلوئید هستند. نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین در مورد این جنس نیز موید نتایج این تحقیق می‌باشد (حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب، ۲۰۰۹؛ Ansari Asl et al., 2000، Coa, 1984، Goldblatt, 1992-1993). از نظر تعداد ستلایت‌ها، نیز گونه *O. lunata* بدون ستلایت، گونه *O. buhseana* دارای چهار ستلایت بود و سایر گونه‌ها دو ستلایت داشتند. این مطالعه نشان داد که هرچند گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف اسپرس دارای تعداد متفاوتی کروموزم پایه هستند ولی همگی در داشتن کروموزم‌های کوچک مشترک هستند، به عبارت دیگر در مقایسه با بسیاری از گونه‌ها و جنس‌های دیگر گیاهی میانگین طول کروموزم‌های اسپرس کوچک‌تر است. مقایسه میانگین طول ژنوم گونه‌های اسپرس نیز نشان داد که بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O. scrobiculata* (۲۴/۲۶ میکرون) و کمترین میانگین طول ژنوم به گونه *O. lunata* (۱۴/۷۶ میکرون) تعلق داشت (جدول ۲).

با استفاده از نسبت اندازه طول بازوی بلند بر بازوی کوتاه کروموزم‌ها و براساس نظر لوان و همکاران (Levan et al., 1964) فرمول کاربوتیپی گونه‌های مورد بررسی تعیین شد. ویژگی‌های کاربوتیپی گونه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که گونه‌های این جنس دارای تیپ کروموزومی متاستریک تا ساب‌متاستریک هستند. به طوری که تمام

جمعیت‌ها از جدول دو طرفه Stebbins استفاده شد (Stebbins, 1971). به منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس انجام شد. مقایسه میانگین صفات نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۱٪) انجام شد. برای تعیین سهم هر یک از صفات اندازه‌گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها، تجزیه به مولفه‌های اصلی و برای گروه‌بندی آن‌ها تجزیه کلاستر (Ward) انجام شد. برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده شد.

نتایج و بحث

نام و رویشگاه گونه‌های بخش *Heliobrychis* که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند در جدول ۱ نشان داده شده است. گونه‌های *O. andalunica*، *O. lunata*، *O. heliocarpa* و *O. atropatana* انحصاری ایران هستند و برای اولین بار در این تحقیق مطالعات کاربوتیپی آن‌ها انجام شد. تصاویر صفحه متافازی و کاریوگرام گونه‌های مورد مطالعه در شکل ۱ و ایدیوگرام مربوط به آن‌ها در شکل ۲ ارائه شده است. از نظر تعداد کروموزوم پایه، بین گونه‌ها عدد پایه کروموزومی ۷ و ۸ مشاهده شد. گونه *O. lunata* با عدد پایه کروموزومی $x=7$ دارای $2n=2x=14$ کروموزوم و سایر گونه‌ها با عدد پایه کروموزومی $x=8$ دارای $2n=2x=16$ کروموزوم بود و در نتیجه همگی

جدول ۱- اسامی گونه‌های مورد مطالعه بخش *Heliobrychis* از جنس اسپرس (*Onobrychis*) و رویشگاه آن‌ها

Table 1. Studied species of sect. *Heliobrychis* of *Onobrychis* and their habitats



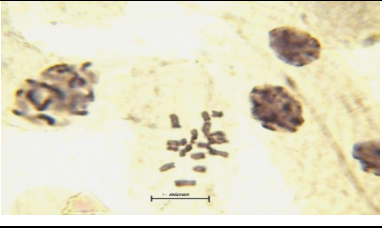
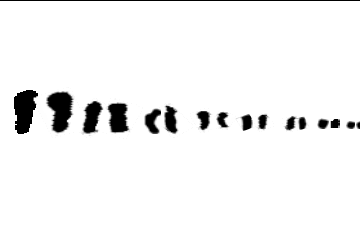
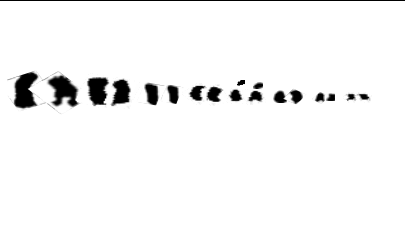


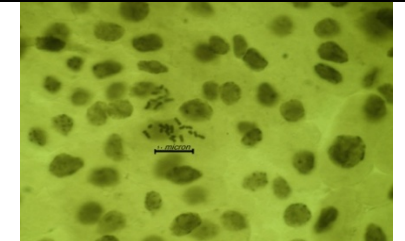
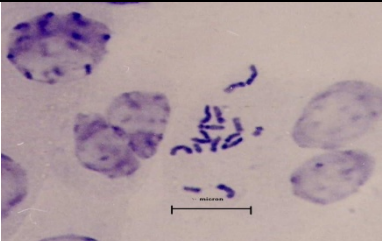
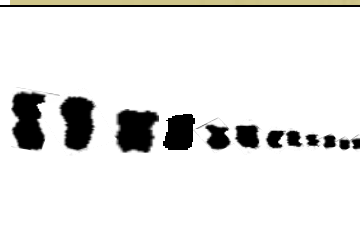

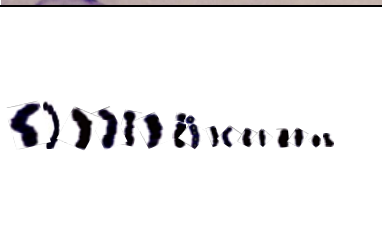
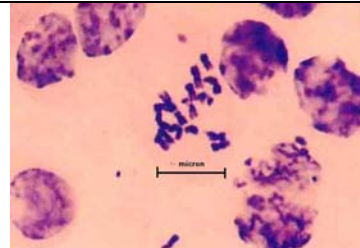


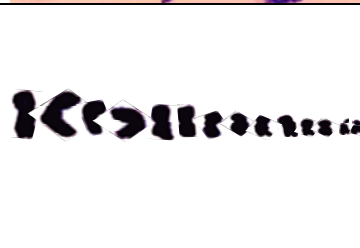
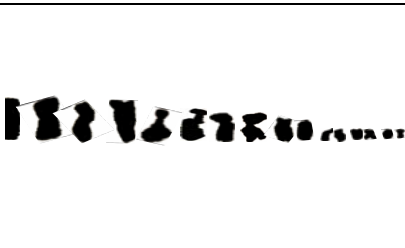
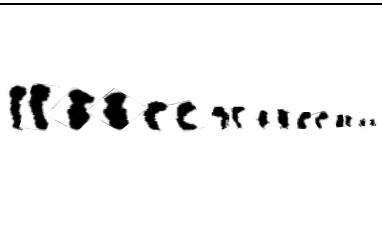
Species	Habitat
<i>O. atropatana</i> Boiss.	East Azerbaijan: Zonooz
<i>O. scrobiculata</i> Boiss.	Khorassan Razavi: Mashhad
<i>O. oxyptera</i> Boiss.	Fars: Shiraz, Kamfiroz, 664†
<i>O. sojakii</i> Rech. f.	Fars: Shiraz, Hosseinabad village
<i>O. andalanica</i> Bornm., Beih.	Kurdistan: Sanandaj, Abidar mountain, 1700- 1760m
<i>O. lunata</i> Boiss.	Kurdistan: Saghez, Malgherni, 162†
<i>O. melanotricha</i> Boiss.	Kerman: Khabr, 158†
<i>O. heliocarpa</i> Boiss.	East Azerbaijan: Shabestar, Tezej village, 335†
<i>O. buhseana</i> Bunge ex Boiss.	East Azerbaijan: Shabestar, Sophian, 297†

† شماره TN نمونه در بانک ژن گیاهی ملی ایران

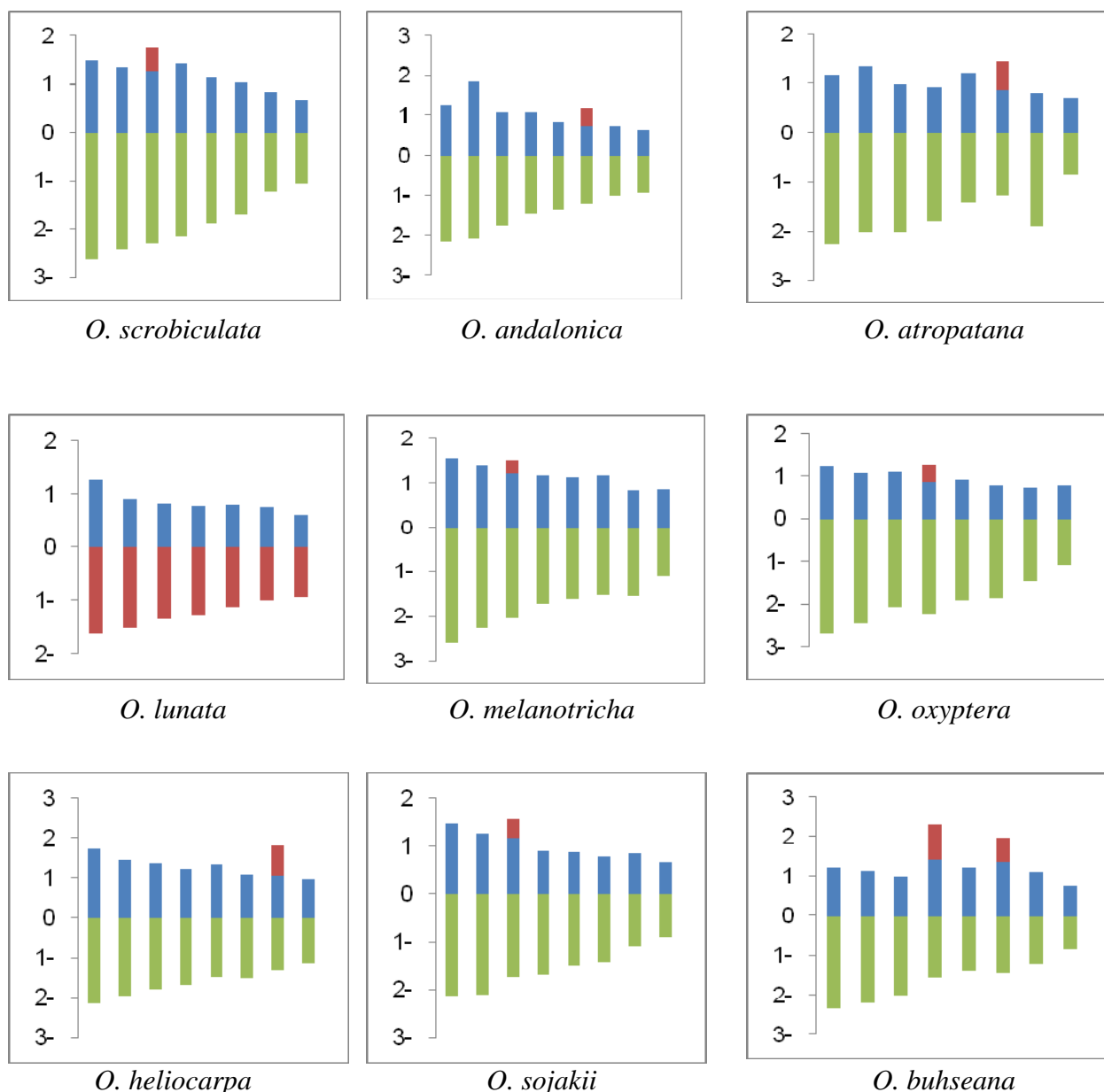
†Number of TN in National Plant Genebank of Iran

کروموزومی در سطح پنج درصد و در مورد مجموع بازوهای کوتاه گونه‌ها در سطح یک درصد تفاوت معنی دار وجود داشت (جدول ۳). معنی دار بودن صفات کروموزومی بیانگر تنوع کاریوتیپی در بین گونه‌های مورد مطالعه است که این امر می‌تواند دلیلی بر انجام مطالعات جامع کروموزومی جهت تعیین وضعیت تکاملی و بررسی قرابت و خویشاوندی گونه‌های مختلف اسپرس باشد. از نظر میانگین طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند تنوع زیادی بین جمعیت‌های مختلف وجود داشت، به نحوی که

کروموزوم‌های گونه‌های *O. lunata* و *O. heliocarpa* از نوع متاستریک و سایر گونه‌ها تلیقی از متاستریک تا ساب متاستریک تعیین شد که مؤید نظر محققین قبلی است (حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب، ۲۰۰۹؛ Aboe-El-Enain, 2002). نتایج تجزیه واریانس صفات مربوط به کروموزوم‌ها نشان داد که بین گونه‌های مختلف اسپرس از نظر صفات طول کل کروموزوم، مجموع بازوهای بلند، نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه، درصد فرم کلی، شاخص عدم تقارن درون

		
		
<i>O. scrobiculata</i>	<i>O. andalonica</i>	<i>O. atropatana</i>
		
		
<i>O. lunata</i>	<i>O. melanotricha</i>	<i>O. oxyptera</i>
		
		
<i>O. heliocarpa</i>	<i>O. sojakii</i>	<i>O. buhseana</i>

شکل ۱- متافاز میتوزی به همراه کاربوتیپی گونه‌های بخش *Heliobrychis* از جنس اسپرس (Onobrychis)
 Fig.1. Metaphase mitosis and karyogram of different species of sect. *Heliobrychis* of Onobrychis



شکل ۲- ایدیوگرام گونه های بخش Heliobrychis از جنس اسپرس (Onobrychis)
 Fig. 2. Idiogram of different species of sect. Heliobrychis of Onobrychis

بیشترین میانگین طول بازوی کوتاه (۱/۳۹ میکرون) به گونه *O. melanotricha* تعلق داشت.

نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *O. heliocarpa* با فرمول کاریوتیپی ۱۶m از

کمترین میانگین طول بازوی کوتاه (۰/۸۳۵ میکرون) و کمترین میانگین طول بازوی بلند به گونه *O. lunata* تعلق داشت. در حالی که بیشترین میانگین طول بازوی بلند (۱/۹۶ میکرون) مربوط به گونه *O. oxyptera* و

جدول ۲- ویژگی‌های کروموزومی و کاربوتیپی گونه‌های مختلف بخش *Heliobrychis* از جنس

اسپرس (*Onobrychis*)

Table 2. Chromosome and karyotypic characteristics of different species of sect. *Heliobrychis* of *Onobrychis*

Species	2n	X	TL	TF%	S%	DRL	A ₁	A ₂	SC	Sat	Karyotype formula
<i>O. atropatana</i>	16	8	20.52	38.218	44.62	9.293	0.341	0.275	2B	2	10m+ 6sm
<i>O. scrobiculata</i>	16	8	24.26	37.162	41.79	9.441	0.399	0.283	1B	2	8m+ 8sm
<i>O. oxyptera</i>	16	8	23.53	32.552	49.76	8.769	0.489	0.240	3B	2	2m+ 14sm
<i>O. sojakii</i>	16	8	20.60	38.740	44.11	9.852	0.352	0.271	1B	2	8m+ 8sm
<i>O. andalunica</i>	16	8	19.41	39.269	46.25	9.486	0.332	0.282	1B	2	14m+ 2sm
<i>O. lunata</i>	14	7	14.76	40.530	53.48	9.178	0.301	0.213	1A	-	14m
<i>O. melanotricha</i>	16	8	23.77	39.395	46.89	9.350	0.329	0.251	1B	2	12m+ 4sm
<i>O. heliocarpa</i>	16	8	23.23	44.856	54.06	7.675	0.218	0.199	1A	2	16m
<i>O. buhseana</i>	16	8	20.61	37.071	45.87	9.350	0.373	0.268	1B	4	6m+ 10sm

2n: تعداد کروموزوم؛ X: عدد پایه کروموزومی؛ TL: طول کل کروموزوم؛ TF%: درصد فرم کلی کاربوتیپ؛ S%: طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم؛ DRL%: اختلاف دامنه طول نسبی؛ A₁: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A₂: شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی؛ SC: کلاس استینز؛ فرمول کاربوتیپی.

2n: Number of chromosomes; X: Base of chromosomes; TL: Total length of chromosome; TF%: Total form percentage; S%: Relative length of shortest chromosome; DRL: Difference of relative length; A₁: Intra asymmetry chromosomal index; A₂: Inter asymmetry chromosomal index; SC: Stebins class.

بودند، در کلاس A قرار گرفتند و دارای کاربوتیپ‌های متقارن تر بودند که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این دو گونه است. گونه *O. oxyptera* در کلاس B ۳ قرار گرفت و کاربوتیپ آن به سوی نامتقارنی و پیشرفته‌بودن تمایل داشت. از طرفی با توجه به این که دو شاخص A₁ و A₂ تقارن کاربوتیپ را بیان می‌کنند، با استفاده از دیاگرام پراکنش مقادیر A₁ و A₂ در مقابل هم می‌توان میزان تقارن یا عدم تقارن هر کاربوتیپ را نیز بررسی کرد (Zarco, 1986). بر اساس دیاگرام پراکنش

بیشترین درصد شکل کلی (۴۴/۸۵۶) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۲۱۸) برخوردار بود و گونه *O. oxyptera* با فرمول کاربوتیپی ۲m+۱۴sm دارای کمترین درصد شکل کلی (۳۲/۵۵۲) و بیشترین شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (۰/۴۸۹) بود. گونه‌های مورد مطالعه با استفاده از روش Stebbins (1971) از نظر کاربوتیپی نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. در میان گونه‌های مورد بررسی گونه‌های *O. lunata* و *O. heliocarpa* بر خلاف سایر گونه‌ها که در کلاس B استینز

جدول ۳ - تجزیه واریانس صفات کاربوتیبی در گونه‌های مختلف بخش Heliobrychis از جنس اسپرس (Onobrychis)

Table3. Analysis of variance for the karyotypic characteristics of different species of sect. Heliobrychis of Onobrychis

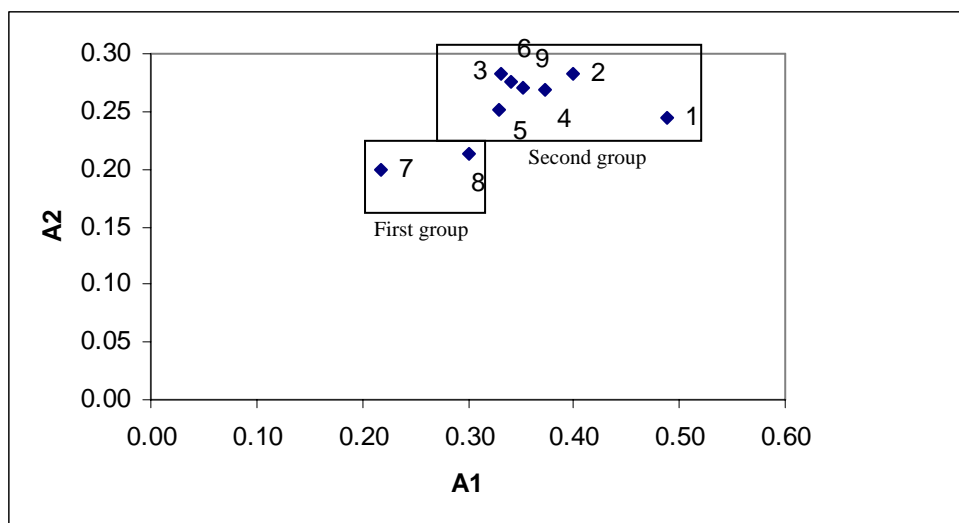
S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS											
			TL	SA	LA	CI	r-value	TF%	S%	DRL%	A ₁	A ₂	P	q
Species	گونه گیاهی	7	26.770**	7.61*	13.2300**	0.250 ^{ns}	10.56**	31.91**	52.81 ^{ns}	1.17 ^{ns}	0.016**	0.002 ^{ns}	0.482 ^{ns}	0.124 ^{ns}
Error	خطا	16	5.840	2.06	2.0500	0.118	0.93	3.10	29.02	1.63	0.001	0.001	0.229	0.077
Total	کل	23												
%CV	ضریب تغییرات		0.003	0.01	0.0005	0.090	0.00	0.00	0.14	0.68	0.000	0.060	0.090	0.190

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively .

TL: طول کل کروموزوم؛ SA: مجموع بازوهای کوتاه؛ LA: مجموع بازوهای بلند؛ CI: شاخص سانترومری؛ r-value: نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ TF%: درصد فرم کلی؛ S%: طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم؛ DRL%: اختلاف دامنه طول نسبی؛ A₁: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A₂: شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی؛ p: طول بلندترین کروموزوم؛ q: طول کوتاه‌ترین کروموزوم.

TL: Total length of chromosome; SA: Sum of short arms; LA: Sum of long arms; CI: Centromic index; r- value: Ratio of long arm to short arm; TF%: Total form percentage ; S%: Relative length of shortest chromosome; DRL: Differencce of relative length; A₁: Intra asymmetry chromosomal index; A₂: Inter asymmetry chromosomal index; p: Length of longest chromosome; q : Length of shortest chromosome.



شکل ۳- نمودار پراکنش گونه‌های بخش *Heliobrychis* جنس اسپرس (*Onobrychis*) بر اساس دو فاکتور A_1 : شاخص عدم تقارن درون کروموزومی و A_2 : شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی: ۱: *O. oxyptera*، ۲: *O. Scrobiculata*، ۳: گونه *O. andalanaica*، ۴: *O. buhseana*، ۵: *O. melanotricha*، ۶: *O. atropatana*، ۷: *O. heliocarpa*، ۸: *O. lunata* و ۹: *O. sojakii*

Fig. 3. Graph of distribution of different species of *Heliobrychis* of *Onobrychis* based on A_1 : Intra asymmetry chromosomal index and A_2 : Inter asymmetry chromosomal index. 1: *O. oxyptera* 2: *O. scrobiculata*, 3: *O. andalanaica*, 4: *O. buhseana*, 5: *O. melanotricha*, 6: *O. atropatana*, 7: *O. heliocarpa*, 8: *O. lunata* and 9: *O. sojakii*

۹۶/۸۱ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه می‌کرد. بار عامل‌ها در مولفه اول نشان داد که مجموع طول بازوها، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و طول بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم دارای بیشترین مقدار هستند، به عبارت دیگر این مولفه بیشتر تحت تاثیر صفات مرتبط با اندازه کروموزوم‌ها است. در مولفه دوم شاخص‌هایی که بر تقارن کاربوتیپی نقش دارند، دارای بیشترین مقدار بودند. در بررسی مولفه سوم، شاخص طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم از مقادیر بیشتری برخوردار بود (جدول ۴). نتایج این بررسی با نتایج حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب (۲۰۰۹) در مورد

گونه‌ها در شکل ۳، گونه‌ها در دو دسته قرار گرفتند. دسته اول دارای مقادیر کمتر A_2 بودند که این مطلب نشان‌دهنده متقارن‌تر بودن کاربوتیپی آن‌ها است. دو گونه *O. lunata* و *O. heliocarpa* در این دسته قرار گرفتند. سایر گونه‌ها در دسته دوم قرار گرفتند که نشان‌دهنده نامتقارن‌تر بودن این گونه‌ها است.

برای تعیین نقش هر یک از صفات کاربوتیپی مورد مطالعه در تنوع بین گونه‌ها، تجزیه به مولفه‌های اصلی بر پایه میانگین دوازده صفت انجام شد. بر این اساس صفات مورد مطالعه به سه مولفه تقسیم شدند که در مجموع

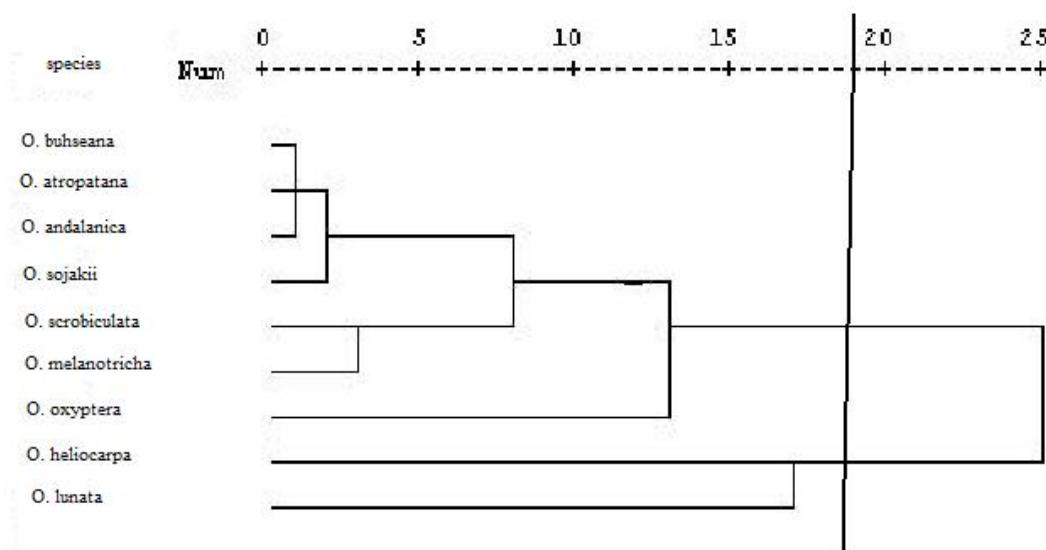
جدول ۴- تجزیه مولفه‌های اصلی صفات کاربوتیپی گونه‌های مختلف بخش *Heliobrychis*
Table 4. Principal component analysis of karyotypic characteristics of different species of sect. *Heliobrychis* of *Onobrychis*

Parameter	First component	Second component	Third component
DRL%	-0.361	0.226	0.837
TF%	-0.019	-0.950	-0.298
S%	-0.228	-0.164	-0.955
A1	0.098	0.939	0.290
A2	0.071	0.264	0.940
P	0.968	0.166	0.053
Q	0.764	-0.075	-0.614
TL	0.979	0.183	0.064
LA	0.771	0.572	0.266
SA	0.837	-0.465	-0.254
CI	0.578	-0.736	0.259
r-VAL	0.257	0.916	0.250
Cumulative variance	36.440	69.140	96.810

TL: طول کل کروموزوم؛ SA: مجموع بازوهای کوتاه؛ LA: مجموع بازوهای بلند؛ CI: شاخص سانترومری؛ r-value: نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ TF%: درصد فرم کلی؛ S%: طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم؛ DRL%: اختلاف دامنه طول نسبی؛ A₁: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A₂: شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی؛ p: طول بلندترین کروموزوم؛ q: طول کوتاه‌ترین کروموزوم.

TL: Total length of chromosome; SA: Sum of short arms; LA: Sum of long arms; CI: Centromic index; r-value: Ratio of long arm to short arm; TF%: Total form percentage; S%: Relative length of shortest chromosome; DRL: Difference of relative length; A₁: Intra asymmetry chromosomal index; A₂: Inter asymmetry chromosomal index; p: Length of longest chromosome; q: Length of shortest chromosome.

گونه‌های دیگری از اسپرس مطابقت دارد. به منظور گروه‌بندی گونه‌ها تجزیه خوشه‌ای به روش Ward انجام شد (شکل ۴). بر این اساس گونه‌های مورد مطالعه در دو گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول شامل گونه‌های *O. lunata* و *O. heliocarpa* بود و گونه‌های دیگر در گروه دوم قرار گرفتند. مشخصه بارز گروه اول نسبت به گروه دوم، داشتن A₁ کوچک‌تر و میزان درصد شکل کلی بالاتر بود. این دو گونه برخلاف گونه‌های دیگر فاقد کروموزوم‌های سبب متاستریک بودند و تنها کروموزوم‌های متاستریک داشتند. نتایج حاصل از این گروه‌بندی، نتیجه به دست آمده از دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها بر اساس دو شاخص A₁ و A₂ را نیز تایید می‌کند. با توجه به گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس خصوصیات کروموزومی بیشترین شباهت بین گونه‌های *O. atropatana* و *O. buhseana* و کمترین قرابت و نزدیکی بین گونه‌های *O. oxyptera* و *O. heliocarpa* وجود داشت، که بدون شک



شکل ۴ - دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های بخش *Heliobrychis* از جنس اسپرس (*Onobrychis*) بر اساس ویژگی‌های کاربوتیپی

Fig. 4. Dendrogram of cluster analysis of different species of sect. *Heliobrychis* of *Onobrychis* based on karyotypic characteristics

O. lunata دارای عدد پایه کروموزومی $x=7$ بوده و دارای $2x=14$ کروموزوم، فرمول کاربوتیپی $14m$ است و در کلاس ۱A استینز قرار دارد، در حالی که عدد پایه کروموزومی در گونه *O. sojakii*، $x=8$ بوده و دارای $2x=16$ کروموزوم با فرمول کاربوتیپی $8m+8sm$ و در کلاس ۱B استینز قرار دارد. طول کل ژنوم در گونه *O. sojakii* نسبت به گونه *O. lunata* بیشتر است. به طور کلی در بین گونه‌های مورد بررسی گونه *O. lunata* کمترین طول کل ژنوم را داشت. علاوه بر این، از نظر مقادیر درصد شکل کلی کاربوتیپ ($TF\%$)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A_1)، شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A_2) نیز دو گونه با یکدیگر اختلاف داشتند. در این مطالعه ویژگی‌های

انجام تلاقی بین این دو گونه از موفقیت چندانی برخوردار نخواهد بود. گونه‌های بخش *Heliobrychis* از نظر مورفولوژیکی بسیار به همدیگر شباهت دارند و شناسایی آن‌ها از یکدیگر به سختی انجام می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، مشخص شد گونه‌هایی که از نظر مورفولوژی به یکدیگر شبیه هستند، از نظر ویژگی‌های کروموزومی با یکدیگر متفاوت هستند. تشخیص دو گونه *O. lunata* و *O. sojakii* نیز که از نظر ویژگی‌های ظاهری بسیار مشکل است، از نظر ویژگی‌های کروموزومی به راحتی قابل تشخیص هستند. این دو گونه از نظر عدد پایه کروموزومی، فرمول کاربوتیپی، کلاس تقارن استینز، میانگین طول کل ژنوم با یکدیگر تفاوت دارند. گونه

سیتوژنتیکی لازم است تا نتایج حاصل از دورگ‌های بین گونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید به مرحله ثبات و پایداری لازم از نظر ویژگی‌های کاربوتیپی برسد. نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند برای رده‌بندی گونه‌های بخش *Heliobrychis* که اکثراً بومی ایران هستند و انتخاب گونه‌های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین گونه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

کاربوتیپی گونه *O. lunata* که بومی ایران است، برای اولین بار تعیین شد و نتایج نشان داد که این گونه کاملاً با سایر گونه‌های این بخش متفاوت است. شمارش تعداد کروموزم‌ها و اندازه‌گیری ابعاد آن‌ها و تعیین اختلاف‌های احتمالی بین کروموزم‌های گونه‌های مختلف می‌تواند به عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی‌های بین گونه‌ای به کار گرفته شود. (Lemmi *et al.*, 1995) و مطالعات

References

- Abou-El-Enain, M. M. 2002.** Chromosomal criteria and their phylogenetic implication in the genus *Onobrychis* Mill sect. *Lophobrychis* (Leguminosae), with special reference to Egyptian species. *Botanical Journal of the Linnean Society* 139: 409-414.
- Amirabadizadeh, H., Abbasi, M., and Ranjbar, M. 2006.** A new species of *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Tribe Hedysareae) from Iran. *Iranian Journal of Botany* 12: 187-190.
- Amirabadizadeh, H., Ghanavati, F., Abbasi, M., and Ranjbar, M. 2009.** A new species of *Onobrychis* Sect. *Afghanicae* (Fabaceae) from Iran. *Iranian Journal of Botany* 15: 45-50.
- Ansari Asl, F., Ahmadian, P., and Nasirzadeh, A. 2000.** Cytological study of *Onobrychis* germplasm in Tehran province. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 36-56.
- Ansari Asl, F., Nasirzadeh, A., and Hatami, A. 2001.** Collection, identification and determination of genetic resources of *Onobrychis* genus in Fars province. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 6(2): 131-140.
- Boissier, E. 1872.** *Onobrychis*. In: *Flor Orientalis Genevae Basileae & Lagundi*. Pages: 526-553.

- Cao, Z. Z. 1984.** Study of the karyotype of *Onobrychis vicifolia*. Zhongguo Caoyuan Grassland of China 1: 54-55.
- Chapman, S. R., and Yuan, M. 1968.** Cytological and morphological variation in breeding stocks of *Onobrychis*. A Preliminary Report. Montana State University, Bulletin 627:93-96.
- Goldblatt, P. 1992-1993.** Index to Plant Chromosome Numbers for 1992-1993. Monographs in Systematic Botany, Vol. 58. Botanical Garden, Saint Lois Missori.
- Hatami, A., and Nasirzadeh, A.R. 2006.** Change in rank position of two *Onobrychis* subspecies according to morphological and karyotypic studies in Fars province. Pajouhesh & Sazandegi 75: 186-191.
- Hesamzadeh Hejazi, S.M., and Ziaei Nasab, M. 2009.** Cytogenetic study on several populations of diploid species of *Onobrychis* in natural gene bank of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 16(2): 158-179.
- Karamian, R., Hadadi, A., and Ranjbar, M. 2008.** Morphological and cytological study on different populations of *Onobrychis altissima* in Iran. Proceedings of the 15th National & International Conferance of Biology. University of Tehran. Tehran. Iran. 250pp.
- Lemmi, G., Lorenzetti, S., and Negri, V. 1995.** The annual medic collection of the Instito de Miglioramento Genetico vegetale of the University of Perugia. Herba 8: 43-52.
- Levan, A., Fredga, K., and Sandberg, A. A. 1964.** Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
- Lock, J. M., and Simpson, K. 1991.** Legume of the West Asia: A Check-list. Royal Botanical Gardens, Kew, UK. 452pp.
- Mabberley, D. J. 1997.** The Plant Book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants, 2nd.ed. Cambridge, UK. 342pp.
- Mirzaie-Nodoushan, H., and Fayazi, M. A. 2000.** Selection indices in some sainfoin (*Onobrychis sativa*) population. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 5: 14-18.

- Ranjbar, M., Amirabadizadeh, H., Karamian, R., and Ghahremani, M. A. 2004.** Notes on *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Fabaceae) in Iran. *Willdenowia* 34:187-190.
- Ranjbar, M., Karamian, R., and Johartchi, M. R. 2006.** Notes on the taxonomy of *Hedysarum* (Fabaceae) in Iran. *Annual Botany Fennici* 43:152-155.
- Ranjbar, M., Karamian, R., Tolui, Z., and Amirabadizadeh, H. 2007.** *Onobrychis assadii* (Fabaceae) a new species from Iran. *Annual Botany Fennici* 44:481-484.
- Rechinger, K. H. 1984.** Papilionaceae. pp. 387- 464. In: Rechinger, K. H. (ed.) *Flora Iranica* 157.
- Stebbins, G. L. 1971.** *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. Edwards Arnold (Publisher) Ltd., London. UK. 216 pp.
- Yakovlev, G. P., Sytin, A. K., and Roskov, J. R. 1996.** *Legumes of Northern Eurasia, A checklist* Royal Botanical Garden, Kew, UK. 542pp.
- Zarco, R. C. 1986.** A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 36: 526-530.